

Polymorphisms of Vitamin D Receptor Gene (Apa I, Fok I) and its Association with Serum Vitamin D and Parathyroid Hormone Levels in Hemodialysis Patients

Shahnam Valizadeh Shahbazlo¹, Amir Ghorbanihaghjo¹, Nasar Samadi¹, Nadereh Rashtchizadeh², Hassan Argani¹,
Jamal Halajzadeh², Sakhavat Abolhasani¹

¹Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

²Biotechnology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Received: 29 Sep, 2013 Accepted: 15 Dec, 2013

Abstract

Background & Objectives: Vitamin-D receptor (VDR), plays a key role in the development of cardiovascular diseases in hemodialysis patients via the modulation of the serum levels of calcium and parathyroid hormone. In this study, we aimed to determine the genetic association of VDR gene polymorphisms with serum levels of vitamin D, parathyroid hormone and fetuin-A in hemodialysis patients.

Material and Methods: Forty six hemodialysis patients and 43 control cases were studied. VDR Genotyping was determined by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. The serum levels of iPTH, Fetuin-A and Vit D were measured by enzyme-linked immunosorbent assay.

Results: There was no significant difference in the genotype frequencies between two study groups in both Fok I and Apa I polymorphisms ($p=0.2$). There was significant difference in serum iPTH levels in Fok I polymorphism ($p=0.02$) and Vit D levels in Apa I polymorphism ($p=0.04$). Although a significant positive correlation between iPTH and Vitamin D levels in aa genotype of patients ($p=0.02$, $r=0.4$) and Vit D and Fetuin-A levels in FF genotype of control group ($p=0.001$, $r=1$) was seen.

Conclusion: Polymorphisms of VDR gene Fok I and Apa I play a key role in the development of cardiovascular diseases in hemodialysis patients.

Keywords: Vitamin D Receptor Gene Polymorphism; Fetuin-A; Vitamin D; Parathyroid Hormone

*Corresponding author:

E-mail: ghorbaniamir@hotmail.com

مقاله پژوهشی

پلی مورفیسم ژن گیرنده ویتامین D (Fok I و Apa I) و ارتباط آن با سطوح سرمی ویتامین D و هورمون پاراتیروئید در بیماران تحت همودیالیز

شهنام ولی زاده شهبازلو^۱، امیر قربانی حق جو^{۱*}، ناصر صمدی^۱، نادره رشتچی زاده^۱، حسن ارگانی^۱، جمال حلاج زاده^۱، سخاوت ابوالحسنی^۱

^۱مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
^۲مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

دریافت: ۹۲/۷/۷ پذیرش: ۹۲/۹/۲۴

چکیده

زمینه و اهداف: پلی مورفیسم رسپتور ویتامین D (VDR) از طریق تاثیر بر هورمون پاراتیروئید و کلسیم نقش مهمی در کنترل کلسیفیکاسیون عروقی و ابتلا به بیماری های قلبی عروقی متعاقب آن در بیماران تحت همودیالیز دارد. حضور VDR در بافت های قلبی و عروقی نشان دهنده ارگان های هدف جدیدی است که پلی مورفیسم VDR می تواند از طریق آنها اثرات خود را ظاهر سازد. هدف مطالعه حاضر بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم Apa I و Fok I رسپتور ویتامین D با سطوح سرمی فتوئین آ، ویتامین D و هورمون پاراتیروئید در بیماران تحت همودیالیز می باشد.

مواد و روش ها: مطالعه مقطعی حاضر، شامل ۴۶ نفر بیمار همودیالیز و ۴۳ نفر سالم به عنوان گروه کنترل می باشد. پلی مورفیسم Apa I و Fok I با روش PCR-RFLP و سطوح سرمی فتوئین آ، ویتامین D و iPTH با روش الایزا انجام گرفت.

یافته ها: هر چند نتایج حاکی از فقدان اختلاف معنی دار بین دو گروه شاهد و بیمار از نظر فراوانی ژنوتیپی در هر دو پلی مورفیسم مورد مطالعه می باشد ($p > 0.02$ هر دو مورد) اما تفاوت معنی داری از نظر سطح سرمی ویتامین D در پلی مورفیسم Apa I ($p = 0.04$) و هورمون پاراتیروئید در پلی مورفیسم Fok I ($p = 0.02$) مشاهده شد. همبستگی معنی داری بین میزان ویتامین D و هورمون پاراتیروئید در ژنوتیپ aa در گروه بیمار ($r = 0.4, p = 0.02$) و بین میزان ویتامین D و فتوئین آ در ژنوتیپ FF گروه کنترل ($r = 1, p = 0.001$) مشاهده گردید.

نتیجه گیری: پلی مورفیسم Fok I و Apa I ژن رسپتور ویتامین D از طریق تاثیر بر سطوح سرمی فاکتورهای دخیل در کلسیفیکاسیون عروقی می تواند بر روند عارضه قلبی و عروقی در بیماران دیالیزی تاثیرگذار باشد.

کلید واژه ها: پلی مورفیسم ژن گیرنده ویتامین D، فتوئین آ، ویتامین D، هورمون پاراتیروئید

* ایمیل نویسنده رابط: ghorbaniamir@hotmail.com

مقدمه

جدیددی است که پلی مورفیسم VDR می تواند از طریق آنها میزان مرگ و میر را تحت تاثیر قرار دهد (۳). بر اساس مطالعات ژنتیکی ثابت شده است که پلی مورفیسم ژن کد کننده رسپتور ویتامین D (VDR) می تواند میزان مرگ و میر در بیماران دیالیزی را تحت تاثیر قرار دهد و در بین پلی مورفیسم های متعدد، پلی مورفیسم Apa I و Fok I مرگ و میر در بیماران دیالیزی را بیشتر می تواند تحت تاثیر قرار دهد (۴). مطالعات نشان داده است که بیماران دارای ژنوتیپ AA و Aa سطوح بالاتری از هورمون پاراتیروئید داشتند و افزایش احتمال خطر مرگ و میر نسبت به بیماران با ژنوتیپ aa گزارش شده اند، بطوریکه حتی در برخی مطالعات از

آترواسکلروز و بیماری های قلبی و عروقی (CV) متعاقب آن یکی از علل اصلی مرگ و میر در بیماران مبتلا به مرحله آخر نارسایی کلیوی End Stage Renal Diseases (ESRD) می باشد (۱). هر چند عوامل و دلایل مختلفی در بروز و درمان این بیماری مورد مطالعه قرار گرفته است اما نقش ویتامین D و همچنین رسپتور ویتامین D (VDR) اجتناب ناپذیر بوده و ثابت شده است که کاهش سطح ویتامین D فعال و تغییر در عملکرد رسپتور ویتامین D بوسیله پلی مورفیسم ژنی در بیماران همودیالیزی نقش مهمی را در مرگ و میر این بیماران ایفا می کند (۲). بنابراین حضور VDR روی بافت عروقی و قلبی نشان دهنده ارگان های هدف

مهم ترین فاکتورهای دخیل در کلسیفیکاسیون عروقی و متعاقب آن عوارض قلبی عروقی در بیماران تحت همودایلیز می باشد.

مواد و روش ها

جمعیت شرکت کننده در مطالعه مقطعی حاضر ۸۹ شامل بیماران همودایلیزی و افراد سالم می باشد، که این تعداد با توجه هزینه و امکانات مربوطه به اندازه گیری، سنجش پارامترهای بیوشیمیایی مورد نظر، تخمین ماهیانه تعداد بیماران مبتلا شده و مراجعه کننده و مطالعات مشابه انجام شده برآورد گردیده است. ۴۶ بیمار همودایلیزی (۲۸ مرد و ۱۸ زن) که به بخش دیالیز بیمارستان شهید مدنی تبریز مراجعه کرده بودند و حداقل شش ماه سابقه همودایلیز با متوسط ۴ ساعت دیالیز در هفته داشتند، مورد بررسی قرار گرفتند. محدوده سنی بیماران مورد بررسی ۶۰/۳±۱۴/۵ سال بود. افرادی که سابقه درمان با مکمل های ویتامین D و هورمون PTH و یا سابقه ابتلا به عارضه قلبی عروقی و بیماری کبدی داشتند از مطالعه حذف شدند. علل نارسایی کلیوی در گروه بیمار، نروپاتی دیابتی (۳۹/۱٪)، هیپرتانسیون (۴/۳٪)، بیماری کلیوی پلی کیستیک (۲/۲٪)، گلوبولونفریت (۸/۷٪) و علل ناشناخته (۴۵/۷٪) بود. همچنین ۴۳ نفر فرد سالم شامل ۲۰ مرد و ۲۳ زن نیز که فاقد هر گونه بیماری کلیوی بوده و سابقه بیماری قلبی عروقی نداشتند، پس از تکمیل پرسشنامه و مصاحبه و نیز در صورت نیاز معاینه توسط پزشک متخصص مربوطه و انجام آزمایشات روتین به عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. پس از اخذ فرم رضایت نامه آگاهانه از تمامی بیماران شرکت کننده در مطالعه حاضر و پس از ۱۰ الی ۱۲ ساعت ناشتا بودن و قبل از عمل همودایلیز نمونه گیری خون از بیماران بعمل آمد. نمونه های خون تام در EDTA جهت استخراج DNA و بررسی ژنتیکی و همچنین حدود ۲ میلی لیتر پس از سانتریفیوژ در دور پایین سرم جهت اندازه گیری ویتامین D، پروتئین فتوئین آ و هورمون پاراتیروئید تهیه شده و در فریزر ۷۰C- تا انجام آزمایشات نگهداری شدند. سطح سرمی پروتئین فتوئین آ با استفاده از کیت الایزا (BioVendor Laboratory Medicine Inc, Brno, Czech Republic) و دستگاه (STATFAX2100, Multi-detection Multi Plate Reader USA) (CV)= 6.5%, limit detection= 0.35 ng/mL, plate reader Intra-assay CV= 5.1% اندازه گیری گردید. اندازه گیری ویتامین D با روش الایزا و استفاده از کیت تجاری (Immunodiagnostic systems Lds, 10 Didcot Way, Boldon Business Park, Tyn & Wear, NE35 9PD, UK) انجام گرفت. سطح سرمی هورمون پاراتیروئید با روش الایزا توسط کیت تجاری (Bolden, UK) اندازه گیری شد. استخراج DNA با استفاده از کیت-QiAmp DNA Blood Midi Kit شرکت (Qiagen, Hilden, Germany) انجام شد. سپس با استفاده از روش Polymerase Chain Reaction (PCR) قطعه ای از ژن رسپتور ویتامین D تکثیر شد. برای آنالیز پلی مورفیسم Fok I از جفت پرایمرهای رفت و برگشت.

ژنوتیپ های AA و Aa به عنوان ریسک فاکتوری برای افزایش مرگ و میر در بیماران تحت همو دیالیز یاد شده است (۵). همچنین نتایج مطالعات مشابه حاکی از آن است که در بیماران با ژنوتیپ FF میزان هورمون پاراتیروئید و در نتیجه باز جذب کلسیم اغلب بالا بوده که این مورد نیز به عنوان یکی دیگر از دلایل افزایش کلسیفیکاسیون عروقی در این دسته از بیماران قلمداد شده است (۶ و ۷). نتایج مطالعات سال های اخیر نشان داده اند که بیان رسپتور ویتامین D بر روی غده پاراتیروئید و کلیه از طریق هوموستاز کلسیم و ویتامین D تنظیم می شود (۸)، مشخص گردیده است که با کاهش عملکرد کلیه سطح ویتامین D فعال شده کاهش می یابد و منجر به هیپر پاراتیروئیدسم ثانویه می گردد که به موازات آن کاهش فیلتراسیون کلیه می تواند منجر به افزایش احتباس فسفر گردد که در نهایت می تواند تولید بیشتر هورمون پاراتیروئید و فاکتور رشد فیبروبلاست را موجب گردد. هورمون پاراتیروئید در بیان رسپتورهای ویتامین D، فعالیت ۱-آلفا هیدروکسیلاز و دفع ادراری فسفر و جریان کلسیم و فسفر از استخوان از طریق بازسازی استخوان نقش دارد و خود به وسیله مکانیسم های ژنتیکی از طریق ویتامین D و کلسیم و فسفر و مکانیسم های دیگر از قبیل افزایش برداشت کلسیم از روده تنظیم می شود. تحت شرایط فیزیولوژیکی کلسیم و فسفر سرم به واسطه واکنش های متقابل بین فاکتورهای متعدد شامل هورمون پاراتیروئید، ۱ و ۲۵ دی هیدروکسی ویتامین D و سطح سرمی مواد معدنی قابل تنظیم می باشد (۹ و ۱۰). هر چند مطالعات جدیدتر به نقش برخی از پروتئین ها به عنوان عوامل تحریکی و مهارتی در کلسیفیکاسیون عروقی اشاره دارند اما اهمیت پروتئین فتوئین آ (α_2 heremans-schmid glycoprotein) در این میان اجتناب ناپذیر بوده و نشان داده شده است که این پروتئین نقش به سزایی در ممانعت از کلسیفیکاسیون و اختلالات آترواسکلروز متعاقب آن را ایفا می نماید (۱۱). فتوئین آ یک پروتئین چند عملکردی موجود در گردش خون است که توسط کبد سنتز و ترشح می شود و به عنوان یک پروتئین فاز حاد منفی و مهارکننده کلسیفیکاسیون عروق و بافت های نرم شناخته شده است و بطور عمده این عمل را با مکانیسم اتصال به ساختارهای هیدروکسی آپاتیت انجام می دهد (۱۱ و ۱۲). مطالعات قبلی در مورد پروتئین فتوئین آ نشان داده است که سطح سرمی این پروتئین در بیماران تحت همودایلیز پایین بوده و پس از پیوند کلیه و برگشت عملکرد کامل کلیه سطح سرمی آن می تواند افزایش می یابد (۱۳). سطح پایین این پروتئین با افزایش کلسیفیکاسیون عروقی مرتبط بوده و ممکن است کلیدهای تنظیمی در جلوگیری از کلسیفیکاسیون نابجا در نارسایی کلیه از طریق واکنش با VDR موجود در بافت عروقی و قلبی باشد (۱۴). اما در مورد ارتباط سرمی این پروتئین با پلی مورفیسم ژن کدکننده رسپتور ویتامین D و سطوح سرمی ویتامین D و هورمون پاراتیروئید مطالعه ای جامع صورت نگرفته است. هدف مطالعه حاضر بررسی پلی مورفیسم Fok I و Apa I رسپتور ویتامین D و ارتباط آن با سطوح سرمی فتوئین آ، ویتامین D و هورمون پاراتیروئید به عنوان

F: 5'-AGC TGG CCC TGG CAC TGA CTC TGC TCT-3'
R: 5'-ATG GAA ACA CCT TGC TTC TTC TCC-3'

میانگین \pm انحراف معیار پس از بررسی با آزمون Kolmogorov - Smirnov Z نمایش داده شده‌اند. جهت مقایسه مقادیر کمی در ۳ ژنوتیپ، هر گروه از آزمون Kruskal-Wallis H به علت تعداد کم نیز عدم وجود همگنی مناسب استفاده گردید. همچنین برای مقایسه ژنوتیپ‌های گروهها از آنالیز آماری Pearson chi-square test و تعیین همبستگی بین نتایج با استفاده از آزمون Spearman انجام گرفت. در تمامی موارد $p < 0/05$ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

توزیع ژنوتیپی مربوط به هر دو پلی مورفیسم در دو گروه مورد مطالعه در جدول شماره ۱ آورده شده است. نتایج جدول حاکی از آن است که تفاوت معنی داری بین افراد سالم و بیمار وجود ندارد ($p=0/2$). غلظت سرمی فتوئین آ، ویتامین D و هورمون پاراتیروئید برحسب ژنوتیپ‌های مختلف در کل افراد مورد مطالعه در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. مقایسه میانگین غلظت سرمی فاکتورهای مورد بررسی بین ژنوتیپ‌های مختلف در هر دو پلی مورفیسم نشان داد که به جز میانگین هورمون پاراتیروئید در پلی-مورفیسم Fok I ($p=0/02$) و میانگین ویتامین D در پلی مورفیسم Apa I ($p=0/04$)، تفاوت معنی داری در کل افراد مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های مختلف وجود ندارد. جدول ۳ ارتباط فاکتورهای مورد نظر در ژنوتیپ‌های مختلف در دو گروه مورد مطالعه را نشان می‌دهد. نتایج بیانگر آن است که بین میزان ویتامین D و هورمون پاراتیروئید در ژنوتیپ aa در گروه بیمار ($p=0/02$, $r=0/4$) و بین میزان ویتامین D و فتوئین آ در ژنوتیپ FF گروه کنترل ($p=0/001$, $r=1$) روابط معنی دار وجود دارد.

استفاده شد (۱۵) که قطعه‌ای به طول ۲۶۵ bp از ژن رسپتور ویتامین D و حاوی جایگاه شکست آنزیم محدودکننده Fok I را سنتز می‌کند و برای بررسی جایگاه پلی مورفیک Apa I از پرایمرهای

F: 5'-CAG AGC ATG GAC AGG GAG CAA G-3'
R: 5'-GCA ACT CCT CAT GGC TGA GGT CTC A-3'

استفاده شد که بخشی از ژن رسپتور ویتامین D به اندازه ۷۴۰bp را سنتز می‌کند (۱۶). برنامه ترمال سایکلر پس از بهینه‌سازی برای هر دو پلی مورفیسم شامل پنج مرحله بود: ۱- مرحله دناتوراسیون اولیه، به مدت ۵ دقیقه در دمای 95°C (یک سیکل) - ۲- مرحله دناتوراسیون، به مدت ۴۵ ثانیه در دمای 94°C - ۳- مرحله اتصال (Annealing)، به مدت ۴۵ ثانیه در دمای 60°C - ۴- مرحله طویل‌سازی (Extension)، به مدت ۴۵ ثانیه در دمای 72°C - ۵- مرحله طویل‌سازی نهایی (Final Extension) به مدت ۱۰ دقیقه در دمای 72°C . سپس محصولات PCR به مقدار ۱۰ میکرو لیتر به مدت ۵ دقیقه در دمای 37°C تحت تاثیر ۱ میکرو لیتر آنزیم Fok I قرار گرفت. این عمل برای آنزیم Apa I به مدت ۲۰ دقیقه در دمای 37°C صورت گرفت. محصولات هضم آنزیمی در ژل آگارز ۰/۳٪ الکتروفورز و با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی گردیدند و با مشخص کردن تعداد و اندازه قطعات حاصل و مقایسه آن با ۱ Kbp DNA Ladder، ژنوتیپ هر نمونه تعیین شد. برای اطمینان از تکثیر قطعه‌ی مورد نظر، محصولات PCR با استفاده از روش‌های PCR-RFLP و سکانسینگ (Sequencing) مورد تایید قرار گرفت. الگوی باندها حاصل برای آلل f قطعات ۱۹۶bp و ۶۹bp و برای آلل a قطعات ۵۳۰bp و ۲۱۰bp می‌باشد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS ورژن ۱۸ استفاده شد. افراد هر گروه بصورت تعداد و درصد گزارش شده است. نتایج کمی بصورت توصیفی

جدول ۱: مقایسه فراوانی ژنوتیپ‌ها در گروه همودایلز و کنترل

پارامتر	گروه کنترل			گروه همودایلز		
	Fok I	ff	FF	Fok I	ff	FF
ژنوتیپ	Ff	Ff	Ff	Ff	Ff	Ff
تعداد (درصد)	۲(۴/۷)	۱۵(۳۴/۹)	۲۶(۰۶/۵)	۱۳(۲۸/۳)	۱۸(۳۹/۱)	۱۵(۳۲/۶)
ژنوتیپ	Aa	Aa	AA	Aa	Aa	AA
تعداد (درصد)	۱۱(۲۵/۶)	۱۶(۳۷/۲)	۱۶(۳۷/۲)	۱۳(۲۸/۳)	۲۳(۵۰)	۱۰(۲۱/۷)

^۱ آزمون آماری Pearson chi-square

جدول ۲: سطوح سرمی ویتامین D، فتوئین آ و هورمون پاراتیروئید در پلی مورفیسم های Fok I و Apa I در گروه کنترل و همودایلز

پارامتر	گروه کنترل			گروه همودایلز		
	Fok I	ff	FF	Fok I	ff	FF
تعداد (درصد)	۲(۴/۷)	۱۵(۳۴/۹)	۲۶(۰۶/۵)	۱۳(۲۸/۳)	۱۸(۳۹/۱)	۱۵(۳۲/۶)
ویتامین D (میانگین \pm انحراف معیار)	۳۱/۵ \pm ۳/۵	۳۰/۶ \pm ۷/۲	۳۹/۹ \pm ۱/۸	۲۳/۲ \pm ۵/۶	۲۴/۱ \pm ۷/۷	۲۰/۶ \pm ۵/۳
آ فتوئین (ng/mL) (میانگین \pm انحراف معیار)	۱۴۸/۵ \pm ۵	۱۸۴/۴ \pm ۹۱	۱۸۷/۶ \pm ۹۹/۵	۱۴۲/۵ \pm ۱۱/۸	۱۱۳/۵ \pm ۱۲/۳	۱۳۳ \pm ۱۰/۴
هورمون پاراتیروئید (pg/dL) (میانگین \pm انحراف معیار)	۲۸ \pm ۱۴/۵	۲۸/۱ \pm ۲۰	۲۵/۹ \pm ۱۳/۲	۳۴/۱ \pm ۱۱/۶	۳۱/۹ \pm ۱۲/۵	۲۴/۳ \pm ۱۲/۶
پارامتر	Aa	Aa	AA	Aa	Aa	AA
تعداد (درصد)	۱۱(۲۵/۶)	۱۶(۳۷/۲)	۱۶(۳۷/۲)	۱۳(۲۸/۳)	۲۳(۵۰)	۱۰(۲۱/۷)
ویتامین D (میانگین \pm انحراف معیار)	۲۷/۹ \pm ۶/۸	۳۶/۷ \pm ۱۵/۲	۴۱/۵ \pm ۱۷/۵	۲۴/۱ \pm ۶/۷	۲۱/۴ \pm ۵	۲۴/۱ \pm ۱۰/۵
فتوئین (ng/mL) (انحراف معیار \pm میانگین)	۱۷۸/۵ \pm ۶۰/۲	۲۰۵ \pm ۱۰۳/۴	۱۶۸/۶ \pm ۱۰۲/۸	۱۴۷/۱ \pm ۱۰/۷	۱۲۹/۴ \pm ۸/۲	۱۰۰/۱ \pm ۷/۴
هورمون پاراتیروئید (pg/dL) (انحراف معیار \pm میانگین)	۱۹/۴ \pm ۶	۳۳/۲ \pm ۲۰/۴	۲۵/۲ \pm ۱۲/۳	۳۷/۹ \pm ۱۵/۰/۲	۳۸/۲/۱ \pm ۱۰/۸	۳۱/۶

^۱ آزمون آماری Kruskal-Wallis H

جدول ۳. ارتباط سطوح سرمی ویتامین D، فتوئین آ و هورمون پاراتیروئید در پلی مورفیسم های مختلف رسپتور ویتامین D در هر دو گروه بیمار و کنترل

IPTH و فتوئین آ		IPTH و ویتامین D		فتوئین آ و ویتامین D		تعداد	ژنوتیپ	پلی مورفیسم ژنی	
P	r ²	P	r ²	P	r ²				
۰/۳	۰/۱	۰/۳	۰/۱	۰/۲	-۰/۲	۴۳	All	Apa I	کنترل
۰/۱	۰/۷	۰/۵	۰/۲	۰/۸	۰/۰۷	۱۶	AA		
۰/۵	۰/۲	۰/۸	۰/۰۶	۰/۲	-۰/۳	۱۶	Aa		
۰/۸	-۰/۱	۰/۴	-۰/۳	۰/۵	-۰/۲	۱۱	aa		
۰/۳	۰/۱	۰/۳	۰/۱	۰/۲	-۰/۲	۴۳	All	Fok I	گروه همودیالیز
۰/۵	۰/۱	۰/۵	۰/۱	۰/۰۰۱	۱	۲۶	FF		
۰/۳	۰/۳	۰/۴	۰/۲	۰/۷	-۰/۱	۱۵	Ff		
-	-	-	-	-	-	۲	ff		
۰/۶	۰/۰۸	۰/۳	۰/۱	۰/۰۹	۰/۳	۴۶	All	Apa I	گروه همودیالیز
۰/۴	۰/۳	۰/۶	۰/۲	۱	۰/۰۱	۱۰	AA		
۰/۷	-۰/۰۹	۰/۹	۰/۰۲	۰/۳	۰/۲	۳۳	Aa		
۰/۸	-۰/۰۷	۰/۰۲	۰/۴	۰/۲	۰/۴	۱۳	aa		
۰/۶	۰/۰۸	۰/۳	-۰/۱	۰/۰۹	۰/۳	۴۶	All	Fok I	گروه همودیالیز
۰/۴	۰/۲	۰/۵	۰/۲	۰/۷	۰/۱	۱۵	FF		
۰/۷	۰/۱	۰/۰۹	-۰/۴	۰/۵	۰/۲	۱۸	Ff		
۰/۶	-۰/۲	۰/۵	۰/۲	۰/۱	۰/۵	۱۳	ff		

ff (n=2)
آزمون آماری Spearman

بحث

در مطالعه حاضر ارتباط پلی مورفیسم Apa I و Fok I ژن رسپتور ویتامین D با سطوح سرمی فتوئین A- و ویتامین D و هورمون پاراتیروئید به عنوان فاکتورهای دخیل در کلسیفیکاسیون عروقی در دو گروه بیمار و کنترل مورد بررسی قرار گرفته شده است. فراوانی ژنوتیپها در دو گروه مورد مطالعه حاضر نشان داد که توزیع ژنوتیپی مربوط به هر دو پلی مورفیسم در افراد سالم و بیمار مشابه است. نتایج مطالعه حاضر در مورد پلی مورفیسم FokI، گزارشات قبلی مربوط به ۸۸ بیمار ایتالیایی را که نشان داده بودند ژنوتیپ FF بیشتر از سایر ژنوتیپها بیان شده اند تایید نمی کند (۱۸). مطالعه حاضر برای نخستین بار ارتباط بین پلی مورفیسم Apa I و Fok I ژن رسپتور ویتامین D بر سطوح سرمی فتوئین آ را مورد بررسی قرار داده است و نشان داد که هر چند ارتباط معنی داری بین سطح ویتامین D با پلی مورفیسم Apa I در گروه کنترل و میزان سرمی هورمون پاراتیروئید با پلی مورفیسم Fok I در گروه بیمار وجود دارد اما ارتباط قابل توجهی بین ژنوتیپهای دو پلی مورفیسم با میزان سرمی فتوئین آ وجود ندارد. مطالعات قبلی نتایج مختلفی را در خصوص تاثیر پلی مورفیسم Apa I و Fok I ژن رسپتور ویتامین D بر سطح سرمی ویتامین D و هورمون پاراتیروئید در بیماران دیالیزی گزارش کرده اند. Yokoyama و همکاران گزارش دادند که ژنوتیپ aa مربوط به پلی مورفیسم Apa I در بیماران دیالیزی جمعیت ژاپنی با سطح افزایش یافته هورمون پاراتیروئید ارتباط دارد که نتایج گزارش شده با نتایج مطالعه حاضر مطابقت ندارد که این مساله می تواند تاثیر نژاد را می تواند مطرح نماید (۵). نتایج این مطالعه در خصوص ارتباط پلی مورفیسمی Fok I با غلظت سرمی هورمون پاراتیروئید همسو با نتایج Vigo Gago و همکاران است که غلظت سرمی هورمون پاراتیروئید را در ژنوتیپ FF به طور معنی داری در بیماران مبتلا به نارسایی مزمن کلیوی به صورت افزایش یافته گزارش کرده اند (۶). بر اساس یافته های Kiyotaka Kohama و همکاران میزان هورمون پاراتیروئید در بیماران تحت همودیالیز در ژنوتیپ-

های مختلف مربوط به پلی مورفیسم Apa I متفاوت بوده و ژنوتیپ aa بیشترین میزان هورمون پاراتیروئید را دارد ولی سطح ویتامین D اختلاف معنی داری در بین ژنوتیپهای مختلف نشان نمی دهد و در پلی مورفیسم Fok I نیز هیچ اختلاف معنی داری در سطوح ویتامین D و هورمون پاراتیروئید گزارش ندادند (۱۶). در نهایت مطالعه حاضر به عنوان اولین مطالعه در زمینه ارتباط بین پلی مورفیسم ژن رسپتور ویتامین D، و (سطوح سرمی) فتوئین آ، ویتامین D و هورمون پاراتیروئید در بیماران دیالیزی در جمعیت ایران است که گزارش های قبلی را که رابطه معنی دار بین فاکتورهای مورد نظر و کلسیفیکاسیون عروقی و متعاقب آن مرگ و میر بیماران دیالیزی را گزارش داده بودند تایید می کند و تاکید بر این نکته است که پلی مورفیسم Apa I و Fok I ژن رسپتور ویتامین D از طریق تاثیر بر سطوح سرمی فاکتورهای دخیل در کلسیفیکاسیون عروقی می تواند بر روند عارضه قلبی و عروقی در بیماران دیالیزی تاثیر گذار باشد. عدم توجه تاثیر جنسیت از محدودیت های مطالعه حاضر می باشد در این مطالعه رابطه بین این پارامترها به تفکیک جنسیت مورد بررسی قرار نگرفته است. همچنین تعداد کم نمونه ها می تواند قدرت نتایج آماری مطالعه حاضر را تحت تاثیر قرار دهد که مطالعات بیشتر با تعداد نمونه بیماران بیشتر لازم است تا یافته های حاضر با قوت بیشتر تایید شود. در نهایت مطالعه میزان تاثیر این ژن و سایر ژن ها بر کلسیفیکاسیون عروقی می تواند نقش این فاکتورها را به عنوان عوامل دخیل در پیشگیری و یا درمان دارویی در بیماران همودیالیزی بیشتر مشخص سازد.

نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان می دهد که پلی مورفیسم Apa I و Fok I ژن رسپتور ویتامین D از طریق تاثیر بر سطوح سرمی فاکتورهای دخیل در کلسیفیکاسیون عروقی می تواند بر روند عارضه قلبی و عروقی در بیماران دیالیزی تاثیر گذار باشد. نتایج بررسی حاضر،

عوارض قلبی و عروقی در بیماران تحت همو دیالیز و همچنین دست یافتن به استراتژی مناسب درمان را مورد تاکید قرار می دهد.

مطالعه نقش پلی مورفیسم ژن رسپتور ویتامین D در جمعیت های مختلف، هم چنین توزیع پلی مورفیسم های دیگر از جمله BsmI و TaqI به منظور تایید تاثیر پلی مورفیسم این ژن در استعداد ابتلا به

References

- Blacher J, Guerin AP, Pannier B. Arterial calcifications, arterial stiffness, and cardiovascular risk in end-stage renal disease. *Hypertension* 2001; **38**(4): 938-942.
- Saracho R, Almirall J, Fibla J. Vitamin D receptor genotype influences parathyroid hormone and calcitriol levels in predialysis patients. *Kidney Int* 1999; **56**: 1349-1353.
- Wu-Wong JR. Potential for vitamin D receptor agonists in the treatment of cardiovascular disease. *Br J Pharmacol* 2009; **158**(2): 395-412.
- Marco MP, Craver L, Betriu A. Influence of vitamin D receptor gene polymorphisms on mortality risk in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2001; **38**: 965-974.
- Yokoyama K, Shigematsu T, Tsukada T. Apa I polymorphism in the vitamin D receptor gene may affect the parathyroid response in Japanese with end-stage renal disease. *Kidney Int* 1998; **53**(2): 454- 483, 1464.
- Vigo Gago E, Cadarso-Suarez C, Perez-Fernandez R. Association between vitamin D receptor Fok I. Polymorphism and serum parathyroid hormone level in patients with chronic renal failure. *J Endocrinol Invest* 2005; **28**: 117-121.
- Steven A Abrams, Ian J Griffin, Keli M Hawthorne. Vitamin D Receptor *FokI* Polymorphisms Affect Calcium Absorption, Kinetics, and Bone Mineralization Rates During Puberty. *Journal of Bone and Mineral Research* 2005; **20**(6): 945-953.
- Kevin D. Healy Janeen L. Parathyroid hormone decreases renal vitamin D receptor expression in vivo. *pans* 2005; **5**: 4724-4728
- Anna Cardús, Sara Panizo, Eva Parisi. Differential Effects of Vitamin D Analogs on Vascular Calcification. *Journal of Bone and Mineral Research* 2007; **22**: 6.
- Hirata M, Katsumata K, Endo K. In subtotaly nephrectomies rats 22-oxacalcitriol suppresses parathyroid hormone with less risk of cardiovascular calcification or deterioration of residual renal function than 1,25(OH)₂ vitamin D₃. *Nephrol Dial Transplant* 2003; **18**: 1770-1776.
- Caglar K, Yilmaz MI, Saglam M. Serum Fetuin-A concentration and endothelial dysfunction in chronic kidney disease. *Nephron Clin Pract* 2008; **108**: 233-240.
- Odamaki M, Shibata T, Takita T, Kumagai H. Serum Fetuin-A and aortic calcification in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2005; **68**: 2915.
- H Argani, A Ghorbanihaghjo, G Panahi, Rashtchizadeh N, Safa J, Meimand SM. Serum Fetuin-A and Pentraxin3 in hemodialysis and renal transplant patients. *Clin Biochem* 2012; **45**(10-11): 775-779.
- Singh M, Sharma PK, Garg VK, Mondal SC. Role of fetuin-A in atherosclerosis associated with diabetic patients. *J Pharm Pharmacol* 2012; **64**(12): 1703-1708.
- Falchetti A, Sferrazza C, Cepollaro C. Fok I Polymorphism of the Vitamin D Receptor Gene Correlates with Parameters of Bone Mass and Turnover in a Female Population of the Italian Island of Lampedusa *Calcif. Tissue Int* 2007; **80**: 15-20.
- Kohama K, Uemasu J, Kawasaki H. Association between Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms and Renal Osteodystrophy in Patients on Maintenance Hemodialysis. *Yonago Acta Medica* 2000; **43**: 27-38.